



PCT
WELTORGANISATION FÜR GEISTIGES EIGENTUM
Internationales Büro
INTERNATIONALE ANMELDUNG VERÖFFENTLICHT NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE
INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT)

<p>(51) Internationale Patentklassifikation 5 : A61K 9/16, 9/20</p>	<p>A1</p>	<p>(11) Internationale Veröffentlichungsnummer: WO 93/13753</p> <p>(43) Internationales Veröffentlichungsdatum: 22. Juli 1993 (22.07.93)</p>
<div style="display: flex; justify-content: space-between;"> <div style="width: 48%;"> <p>(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/DE93/00036</p> <p>(22) Internationales Anmeldedatum: 18. Januar 1993 (18.01.93)</p> <p>(30) Prioritätsdaten: <div style="display: flex; justify-content: space-between;"> <div>P 42 01 179.5 07/876,865</div> <div>17. Januar 1992 (17.01.92) 30. April 1992 (30.04.92)</div> <div>DE US</div> </div> </p> <p>(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten ausser US): ALFA-TEC-PHARMA GMBH [DE/DE]; Im Neuenheimer Feld 519, D-6900 Heidelberg (DE).</p> <p>(72) Erfinder; und (75) Erfinder/Anmelder (nur für US) : WUNDERLICH, Jens-Christian [DE/DE]; Bothestraße 52, D-6900 Heidelberg (DE). SCHICK, Ursula [DE/DE]; Staatsbahnhofstraße 6, D-6908 Wiesloch (DE). WERRY, Jürgen [DE/DE]; Weimarer Straße 20, D-6700 Ludwigshafen (DE). FREIDENREICH, Jürgen [DE/DE]; Huberweg 26, D-6905 Schriesheim (DE).</p> <p style="text-align: right; margin-top: 20px;"><i>Vorfahren waren wohl defektive bei</i></p> </div> <div style="width: 48%;"> <p>(74) Anwalt: KUHNEN, WACKER & PARTNER; Alois-Steinacker-Str. 22, Postfach 1553, D-8050 Freising (DE).</p> <p>(81) Bestimmungsstaaten: AU, CA, JP, US, europäisches Patent (AT, BE, CH, DE, DK, ES, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE).</p> <p>Veröffentlicht <i>Mit internationalem Recherchenbericht.</i></p> <p style="text-align: right; margin-top: 20px;"><i>andere Strategie</i></p> <p style="text-align: center; margin-top: 10px;"><i>Schmelzer</i></p> <p><i>Ziel Celgocalix nicht</i></p> <p><i>Nucleus wie bei 08 2176</i></p> <p><i>größter Anteil sind nicht umwandelbare Stoffe, wären sonst nicht so schnell resorbierbar. Chitosan um einfallig als Hilfsstoff genutzt</i></p> </div> </div>		
<p>(54) Title: PELLETS CONTAINING PEPTIDE DRUGS, THEIR MANUFACTURE AND USE</p> <p>(54) Bezeichnung: PEPTIDARZNEISTOFFE ENTHALTENDE PELLETS UND IHRE HERSTELLUNG SOWIE DEREN VERWENDUNG</p> <p>(57) Abstract</p> <p>Described are pellets containing peptide drugs incorporated in a matrix consisting of gelatin or fractionated gelatin and plasticizers, the pellets having a semi-solid to gel-like consistency. Such drug forms exhibit, after application, bioadhesive properties and, by virtue of the matrix materials specified, allow or enhance the resorption of the peptide drug by the body.</p> <p>(57) Zusammenfassung</p> <p>Peptidarzneistoffe enthaltende Pellets inkorporieren den Peptidarzneistoff in einer Matrix aus Gelatine oder fraktionierter Gelatine und Weichmacher und weisen eine halb feste bis gelförmige Konsistenz auf. Solche Arzneiformen zeigen nach der Applikation bioadhäsive Eigenschaften und ermöglichen bzw. steigern durch die angegebenen Matrixmassen die Resorption des Peptidarzneistoffs im Organismus.</p> <div style="display: flex; justify-content: space-between; margin-top: 20px;"> <div style="width: 45%;"> <p><i>= EP 621 775 B1</i></p> <p><i>6.8.1997</i></p> <p><i>kein Einspruch</i></p> </div> <div style="width: 50%;"> <p><i>Orale Drg. S. 9</i></p> <p><i>Peptid-Wirkstoff — S. 19-20 (Lactulose... - Interferone etc.)</i></p> <p><i>Matrix</i></p> <p><i>→ Chitosan, Cellulose A5</i></p> <p><i>Eudragit S S. 12</i></p> <p><i>Gelatine kapseln S. 13</i></p> <p><i>A3 lipophile Matrix Lecithin Cyclosporin S. 18 ff.</i></p> </div> </div>		

LEDIGLICH ZUR INFORMATION

Code, die zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfhögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

AT	Österreich	FR	Frankreich	MR	Mauritanien
AU	Australien	GA	Gabon	MW	Malawi
BB	Barbados	GB	Vereinigtes Königreich	NL	Niederlande
BE	Belgien	GN	Guinea	NO	Norwegen
BF	Burkina Faso	GR	Griechenland	NZ	Neuseeland
BG	Bulgarien	HU	Ungarn	PL	Polen
BJ	Benin	IE	Irland	PT	Portugal
BR	Brasilien	IT	Italien	RO	Rumänien
CA	Kanada	JP	Japan	RU	Russische Föderation
CF	Zentrale Afrikanische Republik	KP	Demokratische Volksrepublik Korea	SD	Sudan
CC	Kongo	KR	Republik Korea	SE	Schweden
CH	Schweiz	KZ	Kasachstan	SK	Slowakischen Republik
CI	Côte d'Ivoire	LI	Liechtenstein	SN	Senegal
CM	Kamerun	LK	Sri Lanka	SU	Soviet Union
CS	Tschechoslowakei	LU	Luxemburg	TD	Tschad
CZ	Tschechischen Republik	MC	Monaco	TG	Togo
DE	Deutschland	MG	Madagaskar	UA	Ukraine
DK	Dänemark	ML	Mali	US	Vereinigte Staaten von Amerika
ES	Spanien	MN	Mongolei	VN	Vietnam
FI	Finnland				

**Peptidarzneistoffe enthaltende Pellets und ihre Herstellung
sowie deren Verwendung**

5

10 Die Erfindung betrifft Peptidarzneistoff(e) enthaltende Pellets, die mindestens einen Peptidarzneistoff in einer Matrix aus Kollagen oder Gelatine, sowie Weichmacher, verteilt enthalten, wobei die Matrix eine halbfeste bis gelförmige Konsistenz aufweist. Die Erfindung betrifft weiterhin ein Ver-
15 fahren zur Herstellung solcher Pellets, die Peptidarzneistoff(e) enthalten.

Eine optimale, für den Patienten einfache und sichere Anwendung von Arzneistoffen stellt heute die perorale Applika-
20 tion, beispielsweise von Tabletten, Kapseln oder Trinklösungen dar. Im Falle von Peptidarzneistoffen, wie z.B. Insulin, ergeben sich aber ausgeprägte Schwierigkeiten, weil diese Stoffe nach Freisetzung im Gastrointestinaltrakt (Magen oder Dünndarm) bereits vor der Resorption durch enzymatischen Ab-
25 bau zum größten Teil inaktiviert werden. Enzymatischer Abbau in der Magen- oder Dünndarmflüssigkeit oder auf der Mucosa droht die Bioverfügbarkeit von Peptidarzneistoffen, besonders Insulin, auf ein Minimum zu senken.

30 Außerdem entfällt für Peptidarzneistoffe der Resorptionsmechanismus durch passiven Transport weitgehend. Substanzspezifische Eigenschaften, wie Hydrophilie (niedriger Verteilungskoeffizient), Selbstassoziation zu größeren Einheiten oder Bindung an Bestandteile des Gastrointestinaltrakts
35 (GIT) erschweren die Resorption. Ferner wird die Resorption zusätzlich erschwert, wenn durch Dissoziation funktioneller

Wirkstoffgruppen entstehende negative Ladung zu elektrostatischer Abstoßung an der Glycocalyx führt, der negativ geladenen Glykoproteinschicht, die der Lipiddoppelschicht aufliegt. Resorption von Peptidarzneistoffen ist aber trotz
5 dieser Schwierigkeiten gerade dann von außerordentlicher Bedeutung, wenn man eine parenterale Zufuhr erfolgreich umgehen will.

10 Dieses Hauptproblem führt dazu, daß bis jetzt Peptidarzneistoffe grundsätzlich auf keinem anderen Weg als auf dem parenteralen therapeutisch sinnvoll zu applizieren sind.

Ähnlich stellt sich die Situation dar, wenn man alternative Applikationswege wie die bukkale, sublinguale, nasale oder
15 rektale Applikation zu beurteilen hat. Das Hauptproblem ist stets die Überwindung der natürlichen Resorptionsbarriere (Schleimhaut bzw. Mucosa). Daher werden auch bei derartigen Applikationswegen die meisten Peptidarzneistoffe entweder
20 gar nicht resorbiert oder bereits vor der Resorption inaktiviert. Dies liegt zum einen ebenfalls an der Molekülgröße bzw. anderen physikalisch, chemischen Eigenschaften wie Löslichkeit, Polarität des Moleküls etc., zum anderen analog an der Inaktivierung durch enzymatischen Abbau im physiologischen Milieu.

25 Deshalb ist man bei der Suche nach Alternativen zur parenteralen Applikation immer auf ein Vielfaches der Dosis angewiesen, die man bei der Injektion geben würde. Neuentwicklungen für die Applikation im nasalen Bereich sind kritisch
30 zu beurteilen, da bei Langzeitanwendung solcher Nasensprays sich toxische Nebenwirkungen auf die Nasenschleimhaut ergeben können (Entzündungen, Durchblutungsstörungen, Gefahr von Perforationen). Diese Nebenwirkungen werden hauptsächlich durch ungeeignete Penetrations- bzw. Resorptionsbeschleunigersubstanzen, sogenannte Enhancer, hervorgerufen, deren Ri-
35 sikopotential nur schwer abzuschätzen ist. Für die konven-

tionelle nasale Applikation von Peptidarzneistoffen kann jedoch auf den Einsatz dieser Enhancer bis jetzt nicht verzichtet werden, da sonst die Bioverfügbarkeit der Peptidarzneistoffe verschwindend gering wird.

5

Der vorliegenden Erfindung liegt daher die Aufgabe zugrunde, eine einfache galenische Zubereitung für Peptidarzneistoffe zu entwickeln, die für mehrere Applikationswege gleichermaßen gut geeignet ist, das beschriebene Resorptionsproblem dieser Stoffe hinreichend löst und deren bekannte niedrige Bioverfügbarkeit signifikant zu steigern vermag.

10

Diese Aufgabe wird erfindungsgemäß durch Peptidarzneistoff(e) enthaltende Pellets, die mindestens einen Peptidarzneistoff in einer Matrix aus Kollagenhydrolysaten, Gelatinederivaten, Pflanzenproteinen, Pflanzenproteinhydrolysaten, Elastinhydrolysaten, Kollagen oder Gelatine; sowie deren Mischungen, sowie Weichmacher, verteilt enthalten, wobei die Matrix eine halbfeste bis gelförmige Konsistenz aufweist, gelöst. Die Aufgabe wird weiterhin durch ein Verfahren zur Herstellung solcher Pellets, die Peptidarzneistoff(e) enthalten, gelöst.

15

20

Insbesondere stellt die vorliegende Erfindung Peptidarzneistoff enthaltende Formkörper, insbesondere Pellets, zur Verfügung, gekennzeichnet durch eine Dispersion wenigstens eines Peptidarzneistoffs in einer Matrix, die im wesentlichen Gerüstbildner aus hydrophilen Makromolekülen umfaßt, welche ausgewählt sind aus der Gruppe bestehend aus: Kollagen, Gelatine, fraktionierter Gelatine, Gelatinederivaten, Pflanzenproteinen, Pflanzenproteinhydrolysaten, Kollagenderivaten, Kollagenhydrolysaten, Elastinhydrolysaten; sowie deren Mischungen; und welche ferner wenigstens einen Weichmacher umfaßt, wobei die Matrix in fester, halbfester bis gelförmiger Konsistenz vorliegt.

30

35

5 Ferner stellt die vorliegende Erfindung auch ein Verfahren zur Herstellung von Formkörpern, insbesondere Pellets, zur Verfügung, die wenigstens einen Peptidarzneistoff enthalten, dadurch gekennzeichnet, daß man

10 a) den Peptidarzneistoff in einer Matrix aus einem Gerüstbildner aus hydrophilen Makromolekülen, welcher ausgewählt ist aus der Gruppe bestehend aus: Kollagen, Gelatine, fraktionierter Gelatine, Gelatine-derivate, Pflanzenproteine, Pflanzen-proteinhydrolysate, Kollagenderivate Kollagen-hydrolysate, Elastinhydrolysate; sowie deren Mischungen; und Weichmacher dispergiert; und

15 b) die erhaltene Mischung aus Gerüstbildner, Weichmacher und Peptidarzneistoff in ein tiefkaltes inertes verflüssigtes Gas eintropft und damit Pellets formt.

20 Darüber hinaus stellt die vorliegende Erfindung einen Enhancer, zur Verfügung, der dadurch gekennzeichnet ist, daß er eine Kombination wenigstens eines hydrophilen Makromoleküls, ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus:

25 Kollagen, Gelatine, fraktionierte Gelatine, Kollagenderivate, Kollagenhydrolysate, Pflanzenproteine, Pflanzenproteinhydrolysate, Elastinhydrolysate; sowie deren Mischungen;

30 mit einem Weichmacher, der ausgewählt ist aus der Gruppe bestehend aus:

Glycerol, Propylenglykol, Polyethylenglykole, Triacetin, Sorbitol, Sorbitangemische, Sorbitollösungen, Glucosesirup, Polyole, Zuckeralkohole; sowie deren Mischungen, enthält.

35 Als hydrophile Makromoleküle, die als Gerüstbildner für die erfindungsgemäße Matrix eingesetzt werden, sind zu nennen:

Kollagenhydrolysate, Gelatinederivate, Pflanzenproteine, Pflanzenproteinhydrolysate, Elastinhydrolysate, Kollagen, Gelatine, fraktionierte Gelatine, Kollagenderivate.

5 Gelatine ist ein aus kollagenhaltigem Material gewonnenes Skleroprotein, das je nach Herstellungsprozeß unterschiedliche Eigenschaften hat. Sie besteht im wesentlichen aus vier Molekulargewichtsfractionen, die die physikalisch-chemischen Eigenschaften in Abhängigkeit vom Molekulargewicht und pro-

10 zentuaem Gewichtsanteil beeinflussen. Je höher z.B. der Anteil Mikrogel (10^7 bis 10^8 Dalton) liegt, desto höher ist auch die Viskosität der wäßrigen Lösung. Handelsübliche Sorten enthalten bis zu 15 Gewichtsprozent. Die Fraktionen der alpha-Gelatine und deren Oligomere ($9,5 \times 10^4$ / 10^5 bis 10^6

15 D) sind entscheidend für die Gelfestigkeit und liegen üblicherweise zwischen 10 und 40 Gewichtsprozent. Molekulargewichte unterhalb der alpha-Gelatine werden als Peptide bezeichnet und können in herkömmlichen Gelatinequalitäten (niedrigbloomig) bis zu 80 Gewichtsprozent betragen.

20 Gelatine besitzt ein temperatur- und konzentrationsabhängiges Sol-Gel-Umwandlungsverhalten, das von der molekularen Zusammensetzung abhängig ist. Als Konventionsmethode für das Gelbildungsvermögen wird die Bloomzahl angegeben. Niedrige

25 Handelsqualitäten beginnen bei 50 Bloom, hochbloomige Sorten liegen bei etwa 300 Bloom.

Fraktionierte Gelatine stellt den Spezialfall von Gelatine dar und wird durch spezielle Herstellungstechniken, wie z.B.

30 Ultrafiltration aus herkömmlicher Gelatine gewonnen. Die Zusammensetzung kann z.B. durch Entfernung von Peptiden ($MG < 9,5 \times 10^4 D$) oder durch Mischungen aus Einzelfractionen wie z.B. alpha-Ketten, dimeren und trimeren Ketten oder Mikrogel varriert werden.

35

Kollagen in nativer Form ist wasserunlöslich. Durch spezielle Herstellungsverfahren gibt es heute lösliche Kollagentypen.

5 Kollagenderivate sind veränderte Kollagenmoleküle, die beispielsweise mit Crosslinkern dreidimensional vernetzt sein können oder z.B auf andere Art und Weise chemisch vernetzt sein können.

10 Unter Kollagenhydrolysat wird ein von Kollagen oder Gelatine druckhydrolytisch oder enzymatisch gewonnenes Produkt verstanden, das leicht kaltwasserlöslich ist und eine Molekulargewichtszusammensetzung zwischen einigen hundert D bis $9,5 \times 10^4$ D aufweist.

15 Elastinhydrolysate werden enzymatisch aus Elastin gewonnen und besitzen einen hohen Anteil an nicht polaren Aminosäuren. Sie weisen ein Molekulargewicht von ca. 2.000 bis 3.000 D auf.

20 Pflanzenproteine bzw. deren Hydrolysate werden vorzugsweise aus Weizen und Soja gewonnen und besitzen beispielsweise Molekulargewichte von 200.000 bis 300.000 D bzw. 1.000 bis 10.000 D.

25 Die Zusätze von Weichmachern liegen bei 1-50% (bezogen auf die zu verarbeitende Masse) und werden ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus: Glycerol, Propylenglykol, Polyethylenglykole, Triacetin, Sorbitol, Sorbitangemische, Sorbitollösungen, Glucosesirup und andere Polyole bzw. Zuckeralkohole; 30 und deren Mischungen.

Unter Formkörpern wird im Sinne der Erfindung ein solcher verstanden, der ausgewählt ist aus der Gruppe bestehend aus: 35 Pulver, Granulate, Pellets, Aggregate, die im wesentlichen symmetrisch ausgebildet sind.

Gemäß der vorliegenden Erfindung werden unter Pellets bzw. Formkörpern sowohl Formkörper mit einer Größe bis zu ca. 2 mm verstanden, als auch mit einer Größe bis zu 12 mm. Letztere "Pellets" sind als einzeldosierbare Vollkugeln anzusehen.

Weitere Ausführungen hierzu sind in den im folgenden aufgelisteten parallelen internationalen (PCT)-Anmeldungen enthalten. Die Inhalte dieser parallelen PCT-Anmeldungen, am selben Tage beim Deutschen Patentamt von denselben Erfindern und Anmeldern eingereicht:

internes Aktenzeichen: P/81AL2740, Titel: "Pflanzenextrakt(e) enthaltende Formkörper, insbesondere Pellets und ihre pharmazeutische oder kosmetische Verwendung",
PCT/DE93/.....

beanspruchte Prioritäten:

deutsche Patentanmeldung P 42 01 179.5 vom 17.1.1992, USSN 07/876,876 vom 30.3.1992, USSN 07/876,866 vom 30.4.1992 und die deutsche Patentanmeldung P 42 01 1 172.8.

internes Aktenzeichen: P/81AL2741, Titel: "Wirkstoff-enthaltende Festkörper mit einem Gerüst aus hydrophilen Makromolekülen und Verfahren zu ihrer Herstellung",
PCT/DE93/.....

beanspruchte Prioritäten:

deutsche Patentanmeldung P 42 01 179.5 vom 17.1.1992, deutsche Patentanmeldung P 42 01 173.6 vom 17.1.1992, USSN 07/876.864 vom 30.4.1992 und die USSN 07/876,877 vom 30.4.1992.

internes Aktenzeichen: P/81AL2742, Titel: "Verfahren zur Herstellung von Weichgelatine kapseln nach einem Tropfverfahren",

PCT/DE93/.....

beanspruchte Prioritäten:

deutsche Patentanmeldung P 42 01 178.7 vom 17.1.1992 und
USSN 07/876,863 vom 30.4.1992

5

werden hiermit ebenso vollinhaltlich zur Offenbarung der
vorliegenden Anmeldung gemacht, wie die älteren PCT-Anmel-
dungen:

10

PCT/DE92/01010,	PCT/DE92/01012,	PCT/DE92/01014,
PCT/DE92/01016,	PCT/DE92/01007,	PCT/DE92/01008,
PCT/DE92/01015,	PCT/DE92/01013,	PCT/DE92/01009,
PCT/DE92/01011 vom 4.12.1992.		

15

Es hat sich erstaunlicherweise gezeigt, daß die Inkorporie-
rung von Peptidarzneistoffen in eine erfindungsgemäße Pel-
letmatrix mit halbfester bzw. gelförmiger Konsistenz Vor-
teile in vielfacher Hinsicht bietet.

20

Der Peptidarzneistoff liegt in der Matrix geschützt vor
äußeren Einflüssen wie z.B. Licht, Luftsauerstoff etc. vor
und ist damit in seiner galenischen Zubereitung vor Aktivi-
tätsverlusten durch Zersetzungsprozesse bewahrt.

25

Ebenso haben eigene Untersuchungen gezeigt, daß für Pep-
tidarzneistoffe, die in den erfindungsgemäßen Pellets inkor-
poriert vorliegen, eine gesteigerte Resorption und damit
eine signifikante Erhöhung der Bioverfügbarkeit bei der Ap-
plikation in-vivo zu erwarten ist.

30

Bei Peptidarzneistoffen, die unter herkömmlichen Bedingungen
als schlecht resorbierbar gelten, konnte somit durch Einar-
beitung, sogar als einfache Dispersion, in eine erfindungs-
gemäße Zubereitung eine Bioverfügbarkeitssteigerung von 100
bis 150% erzielt werden, im Vergleich zu einer konventionel-
len Zubereitung gleicher Dosierung des Peptidarzneistoffs.

35

Offensichtlich führt also das Vorliegen in einer erfindungsgemäßen Zubereitung zu einer stark erhöhten (effektiveren) Resorption der Peptidarzneistoffdosis unter physiologischen Bedingungen.

5

Als Applikationsarten eignen sich erfindungsgemäß die per-orale, nasale, bukkale, sublinguale oder rektale Applikation.

10

Um die physiologischen Hintergründe der Resorption von Arzneistoffen im allgemeinen und die verbesserte Resorptionsquote der erfindungsgemäßen Pelletformulierungen ausreichend zu erläutern, ist zunächst eine Betrachtung zum Mechanismus der physiologischen Resorption von Arzneistoffen erforderlich, wie er auch in einschlägigen Publikationen dargestellt wird. Allerdings ist die vorliegende Erfindung weder an den folgenden Versuch einer wissenschaftlichen Erklärung der erfindungsgemäß auftretenden Phenomene gebunden noch kann sie hierdurch eingeschränkt werden.

15

Die passive Arzneistoffresorption erfolgt nach heutigem Erkenntnisstand (Theorie nach Brodie et al.), wenn folgende Bedingungen vorliegen:

20

- a) die Gastrointestinalmembran wirkt als Lipidbarriere,
- b) der Arzneistoff wird nur in gelöster und ungeladener, d.h. nichtionisierter Form aufgenommen,
- c) saure Arzneistoffe werden bevorzugt im Magen, basisische Arzneistoffe bevorzugt im Darm resorbiert.

25

30

35

Nach der peroralen Aufnahme eines Arzneistoffs in den Organismus wird seine Resorption, d.h. der Übertritt in den allgemeinen Kreislauf (Biophase) in starkem Maße durch physikalische Barrieren behindert (siehe Fig. 3), nämlich

- durch die Mucus-Schicht und eine wässrige, daran anhängende Schicht

5 - die Zellmembranen der intestinalen Epithelzellen mit der daran kovalent gebundenen Glykocalix sowie

- die sogenannten "Tight Junctions", die die Epithelzellen an ihrer apikalen Seite miteinander verbinden.

10

Diese Barrieren bedingen, daß die Resorption von Arzneistoffen - hauptsächlich abhängig von ihrem Verteilungsmechanismus und Ladungszustand - durch die Lipid-Doppelschichten erfolgt (sogenannte passive Diffusion).

15

Die Epithelzellen des gesamten Magen-Darm-Traktes sind mit einer Mucus-Schicht bedeckt, die aus Mucinen (Glykoproteinen), Elektrolyten, Proteinen und Nucleinsäuren besteht. Vor allem die Glykoproteine bilden mit dem Hauptanteil des Muscus, nämlich Wasser, eine viskose Gelstruktur, die in erster Linie Schutzfunktionen für die darunter liegende Epithelschicht ausübt. Die Mucusschicht ist an die apikale Oberfläche der Epithelzellen über die Glykocalix gebunden. Die Glykocalix hat ebenfalls eine Glykoproteinstruktur, die kovalent an Bausteine der Membran-Doppelschicht der Epithelzellen gebunden ist. Die verzweigten Polysaccharide der Glykocalix, die entweder direkt an amphiphile Moleküle der Doppelmembran oder an die Doppelmembran inkorporierte Proteine kovalent gebunden sind, besitzen geladene N-Acetyl-Neuraminsäure- und Sulfat-Reste und sind daher negativ geladen, was zu einer elektrostatischen Bindung oder Abstoßung von geladenen Arzneistoffmolekülen bzw. von elektrostatisch geladenen Partikeln führen kann. Die Epithelzellmembranen bestehen aus Phospholipid-Doppelschichten, in die Proteine über ihre hydrophoben Bereiche verankert sind. Die Phospholipid-Doppelschichten mit ihrem lipophilen Anteil stellen eine

20
25
30
35

weitere Barriere für den Transport der zu resorbierenden Arzneistoffe dar.

5 Aus dieser Darstellung geht deutlich hervor, daß geladene Arzneistoffmoleküle bzw. elektrostatisch geladene Partikel daher nur eine sehr geringe Chance haben, über den peroralen Applikationsweg resorbiert zu werden.

10 Die erfindungsgemäßen Formkörper geben erstmalig die technische Lehre, ein System zu bilden, mit dem diese vorgenannten Resorptionshindernisse zu überwinden sind.

15 Hydrophile Makromoleküle, insbesondere Gelatine, sind amphiphile Substanzen, die je nach pH-Wert unterschiedliche Ladungszustände aufweisen. Erfindungsgemäß kann nun das hydrophile Makromolekül in den erfindungsgemäßen Systemen so ausgewählt werden, bzw. der pH-Wert der Formulierung so abgestimmt werden, daß sich im physiologischen Milieu ein positiver Ladungszustand ergibt. Damit läßt sich zumindest eine
20 Teilneutralisation der negativen Oberflächenladungen der Glycocalix erreichen. Dieses Neutralisationsphänomen kann durch bioadhäsive Eigenschaften des hydrophilen Makromoleküls, insbesondere Gelatine noch verstärkt wirksam werden.

25 Da gelöste Arzneistoffmoleküle nun die Glykocalix ungehindert passieren können, ohne durch elektrostatische Effekte gebunden bzw. abgestoßen zu werden, erreichen sie damit auch die Oberfläche der Epithelzellen und stehen dort in hoher Konzentration zur Verfügung.

30 Nun können auch aktive, carriervermittelte Transportmechanismen bzw. Phagozytose einen wesentlichen Beitrag zur Resorption liefern.

35 Das bereits im Stand der Technik beschriebene Problem, das sich üblicherweise bei diesen angesprochenen Applikationswe-

gen ergibt, ist die resorptionsbegrenzende Eigenschaft der physiologischen Schleimhaut oder der drohende enzymatische Abbau der Peptidarzneistoffe im physiologischen Flüssigkeitsmilieu.

5

Für die perorale Applikation ergibt sich nun folgendes Bild:

Die zu applizierenden erfindungsgemäßen Pellets sind vorteilhafterweise mit geeigneten Filmüberzügen, z.B. Eudragiten^R (Röhm Pharma, Deutschland) magensaftresistent überzogen. Besonders bewährt haben sich Eudragit S, Mischungen aus Eudragit S und RS-Typen, oder Mischungen aus Eudragit S, Eudragit L und Eudragit RS-Typen. Diese Filmüberzüge besitzen den Vorteil, daß sie bis zur Auflösung wasserundurchlässig sind und sich erst bei pH-Werten oberhalb ca. 7 aufzulösen beginnen, also nachdem die Arzneiform sich bereits in unteren Darmabschnitten befindet oder bereits im Colon. Erst ab diesem Zeitpunkt kann dann die Freisetzung des Peptidarzneistoffs durch Schmelzen der Matrixmasse beginnen. Der Peptidarzneistoff ist damit vor dem enzymatischen Abbau durch die Enzyme der Verdauungsflüssigkeit so lange wirksam geschützt, bis ein peptidasearmer Resorptionsort wie das Colon erreicht ist.

25

Statt Eudragiten^R können auch geeignete Filmüberzüge aus Substanzen, die nach Erreichen des Colons durch dort vorhandene Enzyme abgebaut werden, eingesetzt werden. Hierbei handelt es sich z.B. um azo-vernetzte Polymethacrylate; Polyurethan-Zucker-Copolymere, wobei als Zuckerkomponente insbesondere oligomere Galactomannane oder Galactomannanderivate geeignet sind, die dann im aliphatischen Diisocyanaten vernetzt werden; Galactomannanderivate wie Ethyl- oder Acetyl-galactomannane; mit Adipinsäure vernetzte Polysaccharide.

30

35

Statt einzeln zu applizierender Pellets (Vollkugeln) können auch Formkörper mit kleinerem Durchmesser (kleiner ca. 2 mm)

in konventionelle Hartgelatine kapseln abgefüllt werden. Diese Kapseln sind üblicherweise mit den gleichen, oben beschriebenen Filmbildnern überzogen, um mindestens eine Magensaftresistenz zu erreichen, bevor der Kapselinhalt (einzelne Pellets) freigegeben wird.

Nach dem Schmelzen der erfindungsgemäßen Pelletmatrix im physiologischen Milieu und beginnender Arzneistofffreisetzung schützt die umhüllende (viskose) Solschicht den Peptidarzneistoff wirksam vor dem enzymatischen Abbau durch noch vorhandene Peptidasen. Ein Diffundieren der abbauenden Enzyme durch diese Solschicht ist nämlich erschwert.

Desweiteren zeigt die geschmolzene Matrixmasse hohe Affinität zur Schleimhautoberfläche. Dieses Anheften oder Ankleben an der Schleimhaut (Bioadhäsivität) bewirkt einen direkten Kontakt des Peptidarzneistoffs mit der physiologischen Resorptionsbarriere. Überraschenderweise hat sich dabei gezeigt, daß die Gelatine/Weichmacher-Kombination als sogenannter "Enhancer" wirkt. Dadurch wird der Resorptionsprozess erheblich erleichtert bzw. beschleunigt und vor allem signifikant gesteigert gegenüber herkömmlichen Zubereitungen.

Daher stellt die vorliegende Erfindung auch einen Enhancer, zur Verfügung, der dadurch gekennzeichnet, daß er eine Kombination wenigstens eines hydrophilen Makromoleküls, ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus:

Kollagen, Gelatine, fraktionierte Gelatine, Kollagen-derivate, Kollagenhydrolysate, Pflanzenproteine, Pflanzenproteinhydrolysate, Elastinhydrolysate; sowie deren Mischungen; mit einem Weichmacher, der ausgewählt ist aus der Gruppe bestehend aus:

35

Glycerol, Propylenglykol, Polyethylenglykole, Triacetin, Sorbitol, Sorbitangemische, Sorbitollösungen, Glucosesirup, Polyole, Zuckeralkohole; sowie deren Mischungen, enthält.

5 Ein Wiederausfallen gelöst in der Matrix vorliegender Peptidarzneistoffe im relativ flüssigkeitsarmen Colon wird durch die guten Puffereigenschaften der Gelatine verhindert. Diese Tatsache kann durch Einarbeiten von Puffersubstanzen (z.B. Dinatriumhydrogenphosphat) in die erfindungsgemäße
10 Pelletmatrix noch verstärkt werden.

Eine besondere Ausführungsform der vorliegenden Erfindung, die in Unteransprüchen beansprucht ist, ergibt sich dann, wenn in der Pelletmatrix zusätzliche Hilfsstoffe (Penetrationsbeschleuniger oder sogenannte Enhancer) vorliegen.
15 Diese Stoffe treten in Wechselwirkung mit den Membranen an Schleimhautoberflächen und beschleunigen die erfindungsgemäße Steigerung der Resorptionsrate von Peptidarzneistoffen noch weiter. Gelatine vermindert dabei wirksam das schleimhautirritierende Potential dieser Enhancersubstanzen. Solche Enhancer sind vielfach Tenside (z.B. Natriumlaurylsulfat), von denen die haut- und schleimhautirritierende Wirkung hinreichend bekannt ist. Tenside bilden Komplexe mit proteinhaltigen Bestandteilen von Haut und Schleimhaut. Durch Komplexbildung zwischen Gelatine als proteinhaltigem Material
20 und ionischem Tensid wird jedoch die Reizwirkung solcher Tenside auf die Schleimhaut vermindert. Diese Komplexbildung ist umso stärker, je polarer beispielsweise ein Tensidanion (z.B. das hier erwähnte Natriumlaurylsulfat) ist.

30 Folglich ergibt sich, daß die Bioverfügbarkeit solcher Zubereitungen gegenüber herkömmlichen Zubereitungen damit nochmals erhöht werden kann, bei vermindertem Reizpotential.

35 Für die nasale Applikation der erfindungsgemäßen Formkörper ergibt sich ein prinzipiell vergleichbares Bild:

Die erfindungsgemäßen Pellets können ohne gesonderten Überzug beispielsweise in einem üblichen Hydrogel (z.B. ein 0,5% iges Polyacrylatgel) eingebettet, vorliegen. Ebenso ist aber auch ein direktes Applizieren möglich. Nach Applikation auf der Nasenschleimhaut ergibt sich durch die bioadhäsive Matrix ein sehr intensiver Kontakt des Peptidarzneistoffs mit der Resorptionsfläche.

10 Eigene Untersuchungen haben gezeigt, daß aufgrund der sehr hohen Viskosität des erfindungsgemäßen bioadhäsiven Systems die Verweildauer des Peptidarzneistoffs in der Nasenhöhle gegenüber herkömmlichen Zubereitungen signifikant erhöht ist (dünnflüssige Lösungen haben z.B. eine Verweildauer von ca. 15 min, bevor sie durch den physiologischen Nasenschleim ausgeschwemmt werden). Die Verweildauer der erfindungsgemäßen Zubereitung liegt oberhalb von 4 Stunden.

Durch die Kombination von Gelatine als Hilfsstoff primär biogenen Ursprungs mit Glycerol als Weichmacher, regelt dieses Applikationssystem seinen Feuchtigkeitsgehalt selbsttätig und es erfolgt keine Irritation der Nasenschleimhaut, etwa durch Austrocknen. Ferner ist die Zilientätigkeit in der Nase nicht beeinträchtigt und die z.T. erhebliche Zili-
25 entoxizität von üblichen verwendeten Enhancersubstanzen kann vermindert werden. Auch sonstige, von Enhancern verursachte Schleimhautirritationen (beispielsweise Entzündungen und Blutungen) können analog wie bei der peroralen Applikation beschrieben vermindert werden.

30 Die Gelatine kann wiederum durch Zusatz von Puffersubstanzen so eingestellt werden, daß die natürliche Nasenphysiologie nicht gestört wird.

35 Für die bukkale, sublinguale oder rektale Applikation sind die Verhältnisse analog zur peroralen Applikation zu sehen.

Man hat bei diesen Applikationsarten ebenfalls stets das Problem der Schleimhautbarriere (=Resorptionsbarriere) zu berücksichtigen. Das erfindungsgemäße Matrixsystem bietet auch hier erstaunlicherweise die bereits bei den anderen Applikationsarten beschriebenen Vorteile.

Die erfindungsgemäßen Pellets stellen runde, einheitliche Formkörper mit Korngrößen im Bereich von 0,2 - 12 mm dar. Sie weisen eine hohe Festigkeit auf, sind lagerstabil, gut dosierbar und fallen, bedingt durch den besonderen Herstellungsprozeß, als freifließendes Gut an.

Die Konsistenz der erfindungsgemäßen Pellets steht in direkter Abhängigkeit von dem eingesetzten Sol-Gel-Bildner und der Art und Konzentration des Weichmacherzusatzes.

Der Einsatz von höherbloomigen Gelatinesorten in den erfindungsgemäßen Formkörpern (Bloomwert oberhalb ca. 250) führt zu ganz besonderen Eigenschaften hinsichtlich des bioadhäsiven Verhaltens. Solche Formkörper quellen unter physiologischen Bedingungen durch Feuchtaufnahme an der Oberfläche zunächst an. Auflösung der Matrixmasse erfolgt nur sehr langsam und verzögert. Diese sich ausbildende äußere Solschicht mit sehr hoher Viskosität zeigt ausgezeichnete Haft- und Klebwirkung an Schleimhautoberflächen.

Erfindungsgemäße Formkörper mit niedrigbloomigeren Gelatinesorten (unterhalb 250 Bloom) zeigen dagegen unter physiologischen Bedingungen eine schnellere Auflösung der Matrixmasse. Nach dem Schmelzen führt aber hier der Glycerolzusatz zur Ausbildung einer zähen Masse mit hoher Viskosität, die als flächenförmiges Gebilde über die Schleimhaut verteilt ist und an dieser haftet bzw. klebt.

Bei Peptidarzneistoffen, die extrem thermolabil sind, ermöglicht die Erfindung in einer weiteren Ausführungsform über-

raschenderweise Formkörper mit den erfindungsgemäßen Eigenschaften zur Verfügung zu stellen, die unter ausschließlich kalten Bedingungen hergestellt sind. Bei dieser Vorgehensweise verwendet man eine Matrix aus einem hydrophilen Makromolekül ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus: Pflanzenproteine, Pflanzenproteinhydrolysate, Elastinhydrolysate, Kollagenhydrolysate, kaltwasserlösliche Gelatine, Gelatine-derivate; und Mischungen der vorgenannten Stoffe; mit einem Maximum der Molekulargewichtsverteilung unterhalb 10^5 D.

Besonders geeignet als Weichmacherzusätze sind Stoffe wie z.B. Sorbitol, die nach der Trocknung bei Raumtemperatur fest sind. Erstaunlicherweise bildet die Matrix solcher Pellets nach der Lyophilisation eine feste bis halbfeste Struktur aus, die nach Kontakt mit wäßrigem Medium bzw. unter physiologischen Bedingungen eine bioadhäsive und hochviskose Eigenschaft im Sinne der Erfindung ergibt. Zu der aus hydrophilen Makromolekülen aufgebauten Matrix können weitere pharmazeutisch akzeptable Hilfs- oder Trägerstoffe in Abstimmung auf den jeweiligen Peptidarzneistoff von ca. 1-50% (Gewichtsprozent, bezogen auf die zu verarbeitende Masse) zugesetzt werden.

Im einfachsten Fall läßt sich das erfindungsgemäße Verfahren zur Herstellung von Peptidarzneistoff(en) enthaltenden Pellets mit den folgenden zwei Verfahrensschritten beschreiben:

- a) Man dispergiert einen Peptidarzneistoff in einer Matrix aus einem Gerüstbildner aus hydrophilen Makromolekülen aus der Gruppe: Kollagen, Gelatine, fraktionierte Gelatine, Kollagenderivate, und Weichmacher.
- b) Man tropft die erhaltene Mischung aus Gerüstbildner, Weichmacher und Peptidarzneistoff(en) in eine tiefkalte inerte Flüssigkeit ein und formt damit Pellets.

Bei einer Ausführungsform des unter a) beschriebenen Verfahrensschrittes stellt man eine tropffähige Masse, vorwiegend bestehend aus hydrophilen Makromolekülen als Gerüstbildner, insbesondere Gelatine her.

5

Dabei wird die Gelatine zunächst mit Wasser bei einer Temperatur von 30°C bis 50°C in die Solform überführt. Die Konzentration des Trägermaterials kann beispielsweise von 0,5 bis 60% (Gewichtsprozent, bezogen auf die zu verarbeitende Masse), bevorzugt 0,5 bis 30% variieren.

10

Der pH-Wert des Systems wird durch Zusatz von Säure (z.B. Salzsäure) bzw. Base auf einen Wert eingestellt, der es ermöglicht, den Peptidarzneistoff, beispielsweise Insulin, direkt in der Matrixmasse unter Rühren zu lösen.

15

Insulin ist aufgrund seines isoelektrischen Punktes (IEP) von 5,3-5,4 im schwach sauren Milieu bei pH 3-4, sowie im schwach alkalischen Milieu bei pH 7-8 ausreichend löslich und auch hinreichend stabil.

20

Andere Peptidarzneistoffe mit geringerer Löslichkeit in Wasser, z.B. Ciclosporin können dem Gelatinesol bereits in gelöster Form zugesetzt werden. Die Wasserlöslichkeit von Ciclosporin beträgt bei 25°C nur 0,04 mg/g. Ein solcher Stoff kann daher beispielsweise als Lösung in Polyethylenglykol oder Olivenöl in der Grundmasse homogenisiert bzw. emulgiert werden. Dafür können geeignete maschinelle Einrichtungen wie z.B. Homogenisatoren, Planetenrührwerke etc. verwendet werden. Bei der Emulsionsherstellung kann die Ölphase vorteilhaft eine zu verwendende Enhancersubstanz (Beschreibung siehe unten) bereits enthalten und mit dieser in der Matrixmasse homogenisiert werden. Aufgrund zusätzlicher Tensidwirkung der Enhancersubstanz wird eine Emulsionsbildung erleichtert.

25

30

35

Auch die Einarbeitung von mikroverkapselten Peptidarzneistoffen oder Koazervaten in die Matrixmasse ist möglich.

Desweiteren können auch Mikroemulsionen mit der erfindungsgemäßen Matrixmasse vermischt werden. Unter Mikroemulsionen versteht man beispielsweise Öl in Wasser Emulsionen mit Teilchengrößen im Nanometerbereich. Die wäßrige Phase kann einen löslichen Peptidarzneistoff enthalten, die Ölphase wiederum die Enhancersubstanz(en). Eine mögliche Zusammensetzung der Ölphase umfaßt Cholesterol, Lecithin und nicht veresterte Fettsäuren.

Ganz besonders vorteilhaft ist jedoch erfindungsgemäß der Zusatz von Calciumsalzen (z.B. 1-2% Calciumchlorid) zur Gelatinemasse oder die Verwendung einer Gelatine mit höherem Gehalt an Calciumsalz (nicht völlig von Fremdionen befreite Gelatine). Die Calciumionen bewirken durch Wechselwirkung mit den funktionellen Gruppen der Gelatine einerseits und den polaren Gruppen eines Peptidarzneistoffs andererseits eine Konjugat-(Komplexbildung) der beiden Komponenten. Dadurch können schwer wasserlösliche Peptidarzneistoffe in eine leichter lösliche Form überführt werden. Außerdem fördern die Calciumionen durch Komplexbildung mit Bestandteilen der Zellmembran die Resorption der Peptidarzneistoffe.

Als Arzneistoffe sind erfindungsgemäß einsetzbar:

Reguläres Insulin, mit Zink komplexiertes Insulin oder auch Globin-Zink-Insulin, Octreocid, Desmopressin, Vasopressin, Triptorelin, körpereigene Peptidhormone wie Gonadotropin Releasing Hormon, Somatotropin Releasing Hormon, Corticotropin Releasing Hormon oder Thyreotropin Releasing Hormon, Polypeptidantibiotika, Ciclosporin, Buserelin, Calcitonin, Gonadorelin, Lysoprenin, Oxytocin, Protirelin, Hirudin, Glucagon, Enkephalin oder adrenocorticotropes Hormon, Erythropoietin, Stoffe zur Behandlung von AIDS (Renin-Antagonisten), Stoffe zur Behandlung von Hypertonie (Renin-Antagoni-

sten, Enalapril, Captopril), Interferone (z.B. alpha-Interferon), Antibiotika die sich von Aminosäuren ableiten, Penicilline (z.B. Ampicillin), Cephalosporine (z.B. Cefalexin), Carbapeneme (Thienamycin), Impfstoffe.

5

Als Enhancer können Stoffe aus der Gruppe:

Polyethylenglykol, Propylenglykol, Mono- und Diglyceride, Polyalkohole, Lecithin, Bacitracin, Polyoxyethylen-9-laurylether, Natriumlaurylsulfat, Natriumtaurocholat, Natriumglykocholat, Natriumcholat, Natriumtaurodesoxycholat, Natriumglykodesoxycholat, Natriumdesoxycholat, Natriumtaurodihydrofusidat, Ethylendiamintetraessigsäure-Dinatrium, Citronensäure, Dimethyl-beta-Cyclodextrin, Ölsäure, Protease-Inhibitoren, Polyacrylsäure verwendet werden.

15

Die Konzentrationsbereiche dieser Enhancer liegen zwischen 0,1 bis 25% (Gewichtsprozent, bezogen auf die zu verarbeitende Masse), insbesondere zwischen 0,1 bis 10%.

20

Zu der erfindungsgemäßen Grundmasse können weitere, für die pharmazeutische Anwendung geeignete Hilfs- und Trägerstoffe, wie z.B. zusätzliche Gerüstbildner, die unten stehend näher beschrieben werden, Füllstoffe, wie z.B. Lactose, Dispergiermittel, wie z.B. Dinatriumphosphat, pH-Korrigentien, wie z.B. Dinatriumcitrat, Stabilisatoren, wie z.B. Ascorbinsäure, Kosolventien, wie z.B. Alkohole, natürliche Farbstoffe, wie z.B. Carotinoide, aromatisierende Stoffe oder Geschmackskorrigentien, wie z.B. künstliche Süßstoffe, zugesetzt werden.

30

Als zusätzliche Gerüstbildner können eingesetzt werden:

35

Elastin, Elastinhydrolysate, Kollagenhydrolysate, Pflanzenproteine, Pflanzenproteinhydrolysate, Albumin, Agar-Agar, Gummi arabicum, Pektine, Traganth, Xanthan, natürliche sowie modifizierte Stärken, Dextrane, Dextrine, Maltodextrin, Chitosan, Alginate, Cellulosederivate, Dextran, Zucker, Glycin,

Lactose; Mannit, Polyvinylpyrrolidon, Polyacrylsäure, Polymere aus Methacrylsäure, Polymere aus Methacrylsäureestern; azo-vernetzte Polymethacrylate; Polyurethan-Zucker-Copolymere, wobei als Zuckerkomponente insbesondere oligomere Galactomannane oder Galactomannanderivate geeignet sind, die dann mit aliphatischen Diisocyanaten vernetzt werden; Galactomannanderivate wie Ethyl- oder Acetylgalactomannane; mit Adipinsäure vernetzte Polysaccharide; und deren Mischungen.

10 Unter Kollagenhydrolysat wird ein von Kollagen oder Gelatine druckhydrolytisch oder enzymatisch gewonnenes Produkt ohne Gelbildungsvermögen verstanden. Die Molekulargewichtszusammensetzung kann herstellungsbedingt zwischen einigen Hundert D bis unterhalb von $9,5 \times 10^4 D$ liegen. Kollagenhydrolysate
15 sind kaltwasserlöslich.

Der in Kollagenhydrolysaten vorliegende hohe Anteil an ausgeprägt polaren Aminosäuren (z.B. 12% Hydroxyprolin) verstärkt sowohl die Komplexbildung mit etwaigen zugesetzten
20 Enhancersubstanzen, als auch mit dem Peptidarzneistoff selbst.

Weiterhin kann es erwünscht sein, den beschriebenen Matrixmassen lipophile Bestandteile, wie z.B. Phospholipide zur
25 Ausbildung von Liposomen zuzusetzen.

Durch Zusätze von Weichmachern (Glycerol bzw. Sorbit) von 1-50%, bezogen auf die zu verarbeitende Masse, kann der Restfeuchtegehalt der getrockneten Pellets und damit auch deren
30 Konsistenz von fest bis halbfest eingestellt werden.

Selbstverständlich eignen sich die erfindungsgemäßen Mischungen zu einer sofortigen Abfüllung in flüssiger Form nach dem unter a) beschriebenen Verfahrensschritt zur Aus-
35 formung in Behältnissen, wie z.B. Formen, Weichgelatinekap-seln sowie geeignete andere Umhüllungen.

In einer Ausführungsform des unter b) beschriebenen Verfahrensschrittes wird die beschriebene Matrixmasse zur Ausrundung (Formgebung) und Schockfrostung in ein Tauchbad im Bereich von ca. -70°C bis -220°C eingetropft. Als tiefkalte und inerte Flüssigkeit wird vorzugsweise flüssiger Stickstoff eingesetzt, der die Bestandteile der Pellets nicht verändert. In der tiefkalten Flüssigkeit bilden sich runde Formkörper (Pellets), die nach der Trocknung eine mechanisch stabile Matrix ausbilden. Die Formgebung erfolgt über ein geeignetes Dosiersystem. Jeder diskrete Tropfen nimmt dabei einerseits bereits während des freien Falls, andererseits im Tauchbad durch die um ihn entstehende Gashülle bzw. die Grenzflächenspannung System/Gas Kugelgestalt an, bevor ein vollständiges Ausfrieren erfolgt. Gerade dieses schnelle, aber dennoch kontrolliert steuerbare Gefrieren fixiert den gegebenen Zustand des Systems augenblicklich, d.h. es können keine Arzneistoffe in das umgebende Medium diffundieren, gelöste Bestandteile können nicht mehr auskristallisieren, Suspensionen können nicht mehr sedimentieren, thermisch empfindliche oder feuchtigkeitsempfindliche Bestandteile werden cryokonserviert, das Trägergerüst kann nicht zusammenschrumpfen usw. Das Herstellungsverfahren mit einem inerten Flüssiggas hat also keine nachteilige Beeinflussung oder Veränderung des Produkts zur Folge. Von besonderem Vorteil ist somit der Erhalt der gewünschten Eigenschaften. Weiterhin arbeitet das Verfahren lösungsmittelfrei, belastet die Umwelt nicht und kann unter Sterilbedingungen durchgeführt werden.

Als Dosiersysteme eignen sich alle Vorrichtungen, die diskrete, gleichmäßige Tropfen vorherbestimmbarer Größe erzeugen können, z.B. pipettenartige Tropfvorrichtungen, geeignete Sprüh- oder Zerstäubungsdüsen mit Dosierpumpen.

Weiterhin können für das erfindungsgemäße Verfahren Dosier-
vorrichtungen mit Einstoffdüsen, die das zu tropfende Gut
getaktet oder intermittierend ausstoßen, verwendet werden.

- 5 Eine weiterhin bevorzugte Ausführungsform des erfindungsge-
mäßigen Verfahrens setzt das von Messer Griesheim GmbH ent-
wickelte Cryopel^R-Verfahren (basierend auf DE-OS 37 11 169)
ein. In Verbindung mit einer Tauchfrostanlage, der Cryopel^R-
Anlage, ist die apparative Umsetzung des erfindungsgemäßen
10 Verfahrens in den industriellen Maßstab besonders einfach.
Diese Anlage, die mit flüssigem Stickstoff betrieben werden
kann, zeichnet sich besonders durch ihre Wirtschaftlichkeit
aus. Diese Anlage ist auch für Sterilherstellung geeignet.
Kontinuierliche Arbeitsweise bei geringem Wartungs- und Rei-
15 nigungsaufwand ermöglicht die wirtschaftliche Umsetzung des
erfindungsgemäßen Verfahrens in den industriellen Maßstab.

Es zeigt:

- 20 Fig. 1 eine schematische Darstellung in Schnittansicht ei-
ner Vorrichtung zur Durchführung des erfindungsgemäßen Ver-
fahrens; und

- Fig. 2 eine weitere Vorrichtung zur Ausführung des erfin-
25 dungsgemäßen Verfahrens in schematischer Darstellung.

- Fig. 3 schematisch die Vorgänge, die bei der passiven Re-
sorption von Arzneistoffen in der Gastrointestinalmembran
ablaufen.

- 30 In Fig. 1 ist das von Messer Griesheim GmbH entwickelte
Cryopel^R-Verfahren schematisch dargestellt. Die erfindungs-
gemäße Matrixmasse wird aus der beheizbaren Eintragsvorrich-
tung 1 über kalibrierte Düsen in das Flüssigstickstoffbad 3
35 bei ca. -196°C eingetropft und unter gleichzeitiger Schock-
frostung zu runden Pellets geformt. Über das kontinuierlich

laufende Transportband 2 wird das gefrorene Produkt über die Vorrichtung 5 ausgetragen. Die Dosierung des Flüssigstickstoffes erfolgt über die Zuleitung 7 und das entstehende Stickstoffgas entweicht über die Leitung 6. Die Isolierung 4 umschließt das gesamte System.

In Fig. 2 ist eine schematische Darstellung eines Verfahrens gezeigt, bei der über eine regelbare Dosierpumpe 8 die kalte bzw. auf max. 50°C erwärmte Matrixmasse über die Zuleitung 9 kontinuierlich über die beheizbaren Tropfdüsen 10 in die Isolierwanne 11 mit Flüssigstickstoff 12 eintropft. Die schockgefrosteten Pellets werden chargenweise entnommen. Mit dieser Vorrichtung lassen sich hochviskose Massen verarbeiten.

Sollte das zu verarbeitende System nicht ausreichend fließ- bzw. tropffähig sein, kann z.B. weiterer Wasserzusatz von 1-10 Gew.% erfolgen, die Verarbeitungstemperatur erhöht werden oder aber auch Druck bei der Dosierung zur Anwendung kommen. Im umgekehrten Falle (System zu niedrigviskos) ist analog Unterdruck anzuwenden. Auf diese Weise gewährleistet man gleichmäßige Bildung, wie auch Abriß der einzelnen Tropfen.

Die Verarbeitungstemperatur kann in weiten Bereichen variiert werden, soll aber im Falle von thermisch empfindlichen Peptidarzneistoffen unterhalb von 50°C liegen, wobei der Wirkstoff erst unmittelbar vor der Cryopelletierung zugesetzt wird, um deren thermische Belastung zu vermeiden.

Somit können beispielsweise mit einer Cryopel^R-Dosiervorrichtung Massen, deren Viskosität sich in einem weiten Bereich bewegt, z.B. 1×10^{-3} bis 12,5 Pa x s (Pascalsekunden), problemlos dosiert werden.

Weitere tiefkalte Flüssigkeiten, die sich für das erfindungsgemäße Verfahren eignen, können z.B. flüssige Edelgase wie Argon sein.

- 5 In Abhängigkeit vom gewählten Dosiersystem kann eine Korngrößeneinheitlichkeit von über 70% erreicht werden, die sich durch Klassieren noch zusätzlich erhöhen läßt. Durch Klassieren abgetrennte Anteile können erneut in den flüssigen Zustand überführt und wieder pelletiert werden, so daß ein
10 verlustfreies Arbeiten gewährleistet ist.

In einer Ausführungsform des beschriebenen Verfahrensschrittes werden die Pellets getrocknet.

- 15 Die gefrorenen Pellets werden aufgetaut und konventionell getrocknet. Hierbei kann vorteilhaft zur Beschleunigung des Trocknungsvorgangs und zur Einhaltung von niedrigen Temperaturen unter Vakuum (3.000-5.000 Pa (30-50 mbar)) gearbeitet werden. Es können Trocknungstemperaturen von bis zu 50°C ge-
20 wählt werden, wobei die Temperatur während des Trocknungsvorganges in der Pelletmatrix aufgrund der Verdampfungsenthalpie der Flüssigkeit nicht über 30°C ansteigt.

- Weiterhin können die in der Verfahrensstufe b) gewonnenen
25 Pellets bzw. Formkörper lyophilisiert werden. Durch das erfindungsgemäße Vorgehen wird das bei ca. -196°C (Schockfrostung) amorph gewordene Wasser bei Temperaturen von ca. 15°C unterhalb des Sublimationspunktes bei einem Druck von ca. 0,1 Pa bis 10^3 Pa (ca. 0,001 bis ca. 1,03 mbar) aus der Ma-
30 trixmasse sublimiert, und es bildet sich ein hochporöses, Mikroporen-haltiges Netzwerk. Es können auch erfindungsgemäß Pellets, die einen Weichmacherzusatz enthalten, gefriergetrocknet werden.

Im Rahmen seines Fachwissens kann der Fachmann leicht selbstständig weitere Verfahrensvarianten ausarbeiten. Die nachfolgenden Beispiele sollen die Erfindung näher erläutern:

5

Beispiel 1: (perorale Applikation)

200 g Gelatinepulver (220 Bloom)

150 g Glycerol (85%)

10

650 g destilliertes Wasser

Das Gelatinepulver wird in dem Wasser ca. 45 min vorgequollen und bei 40°C vollständig aufgelöst. Durch Salzsäurezusatz wird ein pH-Wert von 3 eingestellt.

15

10000 I.E. (internationale Einheiten) Normal-Insulin werden unter Rühren in dem Gelatinesol dispergiert. Danach wird das Glycerol homogen untergemischt.

20

Über die in Fig.1 dargestellte Cryopel^R-Apparatur wird die Mischung bei 40°C in ein Tauchbad mit flüssigem Stickstoff getropft und damit Pellets geformt. Die tiefgefrorenen Formkörper werden anschließend aufgetaut und bei einer Temperatur von 25°C so lange aufgetrocknet, bis eine Pelletmenge

25

von 500 mg (bezogen auf die getrockneten Pellets) genau 10 I.E. Insulin enthält.

Die so getrockneten Pellets werden in konventionelle, opak eingefärbte Hartgelatine kapseln abgefüllt mit einem Füllgewicht von je 500 mg. Anschließend werden die Hartgelatine kapseln durch Aufsprühen einer 6%igen acetonischen Lösung von Eudragit S und Eudragit RS im Verhältnis 3:2 magensaftresistent überzogen.

30

35 Unter Testbedingungen (Dissolutiontestapparatur nach USP XXII, Drehkörbchen, 1000 ml 0,1 N Salzsäure, 37°C, 50 rpm)

erfolgt während der Testdauer von 120 min kein Kapselzerfall. Nach Austausch des Prüfmediums gegen Phosphatpuffer pH 8 erfolgt jedoch ein Kapselzerfall innerhalb 15 min. Die einzelnen Pellets werden nun freigegeben und schmelzen innerhalb von 30 min vollständig.

Beispiel 2: (nasale Applikation)

197,5 g Gelatinepulver (100 Bloom)
3,5 g Sojalecithin
150 g Glycerol (85%)
650 g destilliertes Wasser

Das Gelatinepulver wird mit dem Lecithin vermengt und in dem Wasser ca. 30 min vorgequollen und dann bei 40°C aufgelöst

10 g (280000 I.E.) Normal-Insulin werden in der Matrixmasse unter Rühren homogen dispergiert. Danach wird das Glycerol zugemischt.

Anschließend wird über die in Fig. 2 dargestellte Anlage das auf 40°C erwärmte Gemisch über die Pumpe in das Tauchbad mit flüssigem Stickstoff dosiert und damit Pellets geformt. Die tiefgefrorenen Formkörper werden nach Auftauen bei 25°C bis 35°C getrocknet. Sie haben einen Durchmesser von 3 mm.

Die so hergestellten Pellets können als einzeldosierte Arzneiformen aus einem Dosierspender entnommen werden. Sie beginnen nach der Applikation auf der Nasenschleimhaut zu haften und bilden nach Schmelzen eine hochviskose Masse, deren Verweilzeit in der Nasenhöhle mindestens 4 Stunden beträgt.

Beispiel 3:

Durch Benutzen von Düseneinsätzen mit geringerem Durchmesser können über die in Fig. 2 dargestellte Anlage analog Bei-

spiel 2 Pellets mit einem durchschnittlichen Durchmesser von 1 mm hergestellt werden.

5 Diese können in ein steriles 0,5%iges wäßriges Polyacrylatgel eingebettet werden und mit dieser Grundlage auf der Nasenschleimhaut aufgetragen werden.

Beispiel 4: (perorale Applikation)

10 350 g Gelatinepulver (300 Bloom)
150 g Glycerol (85%)
50 g Polyethylenglykol 400
1450 g destilliertes Wasser

15 Die Gelatine wird in dem Wasser ca. 45 min vorgequollen und anschließend bei 50°C vollständig gelöst.

20 100 g Ciclosporin werden in der Mischung aus dem Glycerol und dem Polyethylenglykol dispergiert und danach mit der Gelatinelösung homogen vermischt.

25 Anschließend wird über die in Fig. 2 dargestellte Anlage das auf 50°C erwärmte Gemisch über die Pumpe in das Tauchbad mit flüssigem Stickstoff dosiert und damit Pellets geformt. Die tiefgefrorenen Formkörper werden nach Auftauen bei ansteigender Temperatur zwischen 25°C bis 40°C getrocknet und weisen einen Durchmesser von 6 mm auf.

30 Die Formkörper werden anschließend durch Aufsprühen einer 5%igen methanolischen Lösung von Eudragit L magensaftresistent überzogen.

35 Als einzeldosierte Vollkugeln gegeben, beginnt sich der Filmüberzug unter physiologischen Bedingungen bei pH-Werten oberhalb von 6 aufzulösen. Nach Aufquellen an der Oberfläche

und Ausbildung einer Solschicht haften bzw. kleben die Formkörper an der Darmschleimhaut.

Patentansprüche

5

10

15

20

25

30

35

1. Peptidarzneistoff enthaltende Pellets, gekennzeichnet durch eine Dispersion wenigstens eines Peptidarzneistoffs in einer Matrix, die im wesentlichen Gerüstbildner aus hydrophilen Makromolekülen umfaßt, welche ausgewählt sind aus der Gruppe bestehend aus: Kollagen, Gelatine, fraktionierter Gelatine, Gelatinederivaten, Pflanzenproteinen, Pflanzenproteinhydrolysaten, Kollagenderivaten Kollagenhydrolysaten, Elastinhydrolysaten, sowie deren Mischungen, und

welche ferner wenigstens einen Weichmacher umfaßt, wobei die Matrix in fester, halbfester bis gelförmiger Konsistenz vorliegt.

2. Pellets nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß der Weichmacher ausgewählt ist aus der Gruppe bestehend aus:

Glycerol, Propylenglykol, Polyethylenglykole, Triacetin, Sorbitol, Sorbitangemische, Sorbitollösungen, Glucosesirup, Polyole, Zuckeralkohole; sowie deren Mischungen, wobei der Weichmacher in einer Konzentration von etwa 1-50 Gew.-% (bezogen auf die zu verarbeitende Masse) vorliegt.

3. Pellets nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß die Matrix ferner einen Resorptionsbeschleuniger (Enhancer), ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus: Polyethylenglykol, Propylenglykol, Mono- und Diglyceride, Polyalkohole, Lecithin, Bacitracin, Polyoxyethylen-9-laurylether, Natriumlaurylsulfat, Natriumtaurocholat,

Natriumglykocholat, Natriumcholat, Natriumtaurodesoxycholat, Natriumglykodesoxycholat, Natriumdesoxycholat, Natriumtaurodihydrofusidat, Ethylendiamintetraessigsäure-Dinatrium, Citronensäure, Dimethyl-beta-Cyclodextrin, Ölsäure, Protease-Inhibitoren, Polyacrylsäure, sowie deren Mischungen, enthält.

4. Pellets nach Anspruch 3, dadurch gekennzeichnet, daß der Gehalt der Matrix an Resorptionsbeschleuniger weniger als 25 Gew.-% (bezogen auf die zu verarbeitende Masse) beträgt.

5. Pellets nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß die Matrix einen pharmazeutisch akzeptablen Hilfs- oder Trägerstoff, ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus: Albumin, Agar-Agar, Gummi-arabicum, Pektine, Traganth, Xanthan, natürliche sowie modifizierte Stärken, Dextrane, Dextrine, Maltodextrin, Chitosan, Alginate, Cellulosederivate, Dextran, Zucker, Glycin, Lactose, Mannit, Polyvinylpyrrolidon, Polyacrylsäure, Polymere aus Methacrylsäure, Polymere aus Methacrylsäureestern, azo-vernetzte Polymethacrylate, Polyurethan-Zucker-Copolymere, wobei als Zuckerkomponente insbesondere oligomere Galactomannane oder Galactomannanderivate geeignet sind, die dann mit aliphatischen Diisocyanaten vernetzt werden, Galactomannanderivate wie Ethyl- oder Acetylgalactomannane, mit Adipinsäure vernetzte Polysaccharide und deren Mischungen enthält.

6. Pellets nach Anspruch 1, gekennzeichnet durch eine Korngröße von 0,2 - 12 mm.

7. Pellets nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß der Gerüstbildner ein Sol-Gel-Bildner ist, ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus:

Gelatine, Gelatine mit einem Maximum der Molekulargewichtsverteilung oberhalb 10^5 D.

8. Verfahren zur Herstellung von Pellets, die wenigstens einen Peptidarzneistoff enthalten, dadurch gekennzeichnet, daß man

a) den Peptidarzneistoff in einer Matrix aus einem Gerüstbildner aus hydrophilen Makromolekülen, welcher ausgewählt ist aus der Gruppe bestehend aus:

Kollagen, Gelatine, fraktionierter Gelatine, Gelatinederivaten, Pflanzenproteinen, Pflanzenproteinhydrolysaten, Kollagenderivaten Kollagenhydrolysaten, Elastinhydrolysaten, sowie deren Mischungen, und Weichmacher dispergiert, und

b) die erhaltene Mischung aus Gerüstbildner, Weichmacher und Peptidarzneistoff in ein tiefkaltes inertes verflüssigtes Gas eintropft und damit Pellets formt.

9. Verfahren nach Anspruch 8, dadurch gekennzeichnet, daß man die Dispersion in flüssigen Stickstoff eintropft.

10. Verfahren nach Anspruch 9, dadurch gekennzeichnet, daß man aus der Dispersion Tropfen in gleichmäßiger vorherbestimmter Form mittels eines Dosiersystems herstellt.

11. Verfahren nach Anspruch 8, dadurch gekennzeichnet, daß der Dispersion aus Gerüstbildner und Peptidarzneistoff Weichmacher, ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus: Glycerol, Propylenglykol, Polyethylenglykole, Triacetin, Sorbitol, Sorbitangemische, Sorbitollösungen, Glu-

cosesirup und andere Polyole bzw. Zuckeralkohole, sowie deren Mischungen

in einer Konzentration von 1-50 Gew.-% (bezogen auf die zu verarbeitende Masse) zugesetzt werden.

5

12. Verfahren nach Anspruch 8, dadurch gekennzeichnet, daß man die Dispersion aus Gerüstbildner, Weichmacher und Peptidarzneistoff mit einem Resorptionsbeschleuniger, ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus: Polyethylen-
glykol, Propylenglykol, Mono- und Diglyceride, Poly-
alkohole, Lecithin, Bacitracin, Polyoxyethylen-9-lau-
rylether, Natriumlaurylsulfat, Natriumtaurocholat, Na-
triumglykocholat, Natriumcholat, Natriumtaurodesoxy-
cholat, Natriumglykodesoxycholat, Natriumdesoxycholat,
Natriumtaurodihydrofusidat, Ethylen-
diamintetraessigsäure-Dinatrium, Citronensäure, Dime-
thyl-beta-Cyclodextrin, Ölsäure, Protease-Inhibitoren,
Polyacrylsäure; sowie deren Mischungen,
versetzt.

20

13. Verfahren nach Anspruch 8, dadurch gekennzeichnet, daß man die Matrix mit einem zusätzlichen Hilfs- oder Trägerstoff, ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus: Kollagenhydrolysate, Elastin, Elastinhydrolysate, Pflanzenproteine, Pflanzenproteinhydrolysate; sowie deren Mischungen
versetzt.

25

14. Verfahren nach Anspruch 8, dadurch gekennzeichnet, daß man die Pellets nach Stufe b) trocknet.

30

15. Verfahren nach Anspruch 8, dadurch gekennzeichnet, daß man die Pellets nach Stufe b) gefriertrocknet.

35

16. Verfahren nach Anspruch 8, dadurch gekennzeichnet, daß als Gerüstbildner Gelatine mit einem Maximum der Mole-

kulargewichtsverteilung oberhalb 10^5 D bei maximal 40°C eingesetzt wird.

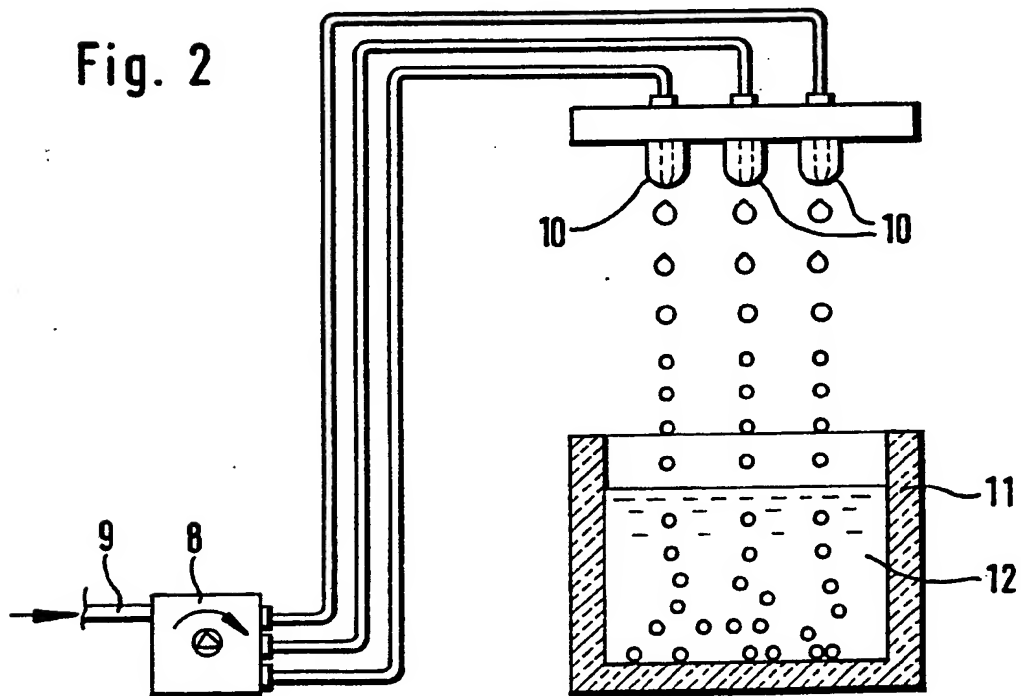
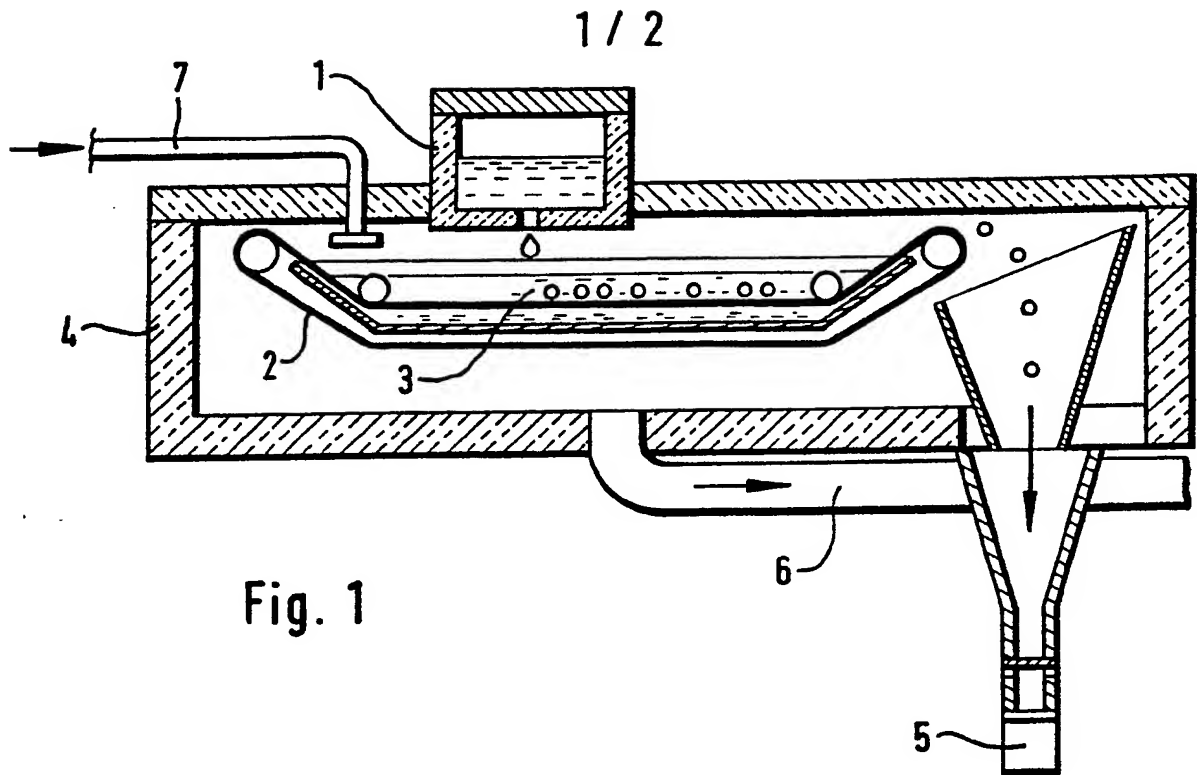
- 5 17. Verwendung der Pellets nach Anspruch 1 zur Herstellung einer bioadhäsiven pharmazeutischen Zubereitung.
18. Verwendung der Pellets nach Anspruch 1 zur Herstellung einer peroralen Zubereitung.
- 10 19. Verwendung der Pellets nach Anspruch 1 zur Herstellung einer nasalen Zubereitung.
20. Verwendung der Pellets nach Anspruch 1 zur Herstellung einer bukkalen oder sublingualen Zubereitung.
- 15 21. Verwendung der Pellets nach Anspruch 1 zur Herstellung einer rektalen Zubereitung.
22. Verwendung der Pellets nach Anspruch 1 zur Herstellung einer peroralen Retardzubereitung.
- 20 23. Verwendung der Pellets nach Anspruch 1 in der Pharmazie.
- 25 24. Pharmazeutische Zubereitung, enthaltend Pellets nach Anspruch 1.
- 30 25. Peptidarzneistoff enthaltende Formkörper, gekennzeichnet durch eine Dispersion wenigstens eines Peptidarzneistoffs in einer Matrix, die im wesentlichen Gerüstbildner aus hydrophilen Makromolekülen umfaßt, welche ausgewählt sind aus der Gruppe bestehend aus: Kollagen, Gelatine, fraktionierter Gelatine, Gelatine-derivaten, Pflanzenproteinen, Pflanzenproteinhydrolysaten, Kollagenderivaten Kollagenhydrolysaten, Elastinhydrolysaten; sowie deren Mischungen, und welche ferner
- 35

wenigstens einen Weichmacher umfaßt, wobei die Matrix in fester, halbfester bis gelförmiger Konsistenz vorliegt.

- 5 26. Enhancer, dadurch gekennzeichnet, daß er eine Kombination wenigstens eines hydrophilen Makromoleküls, ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus:
Kollagen, Gelatine, fraktionierte Gelatine, Kollagen-
10 derivate, Kollagenhydrolysate, Pflanzenproteine, Pflanzenproteinhydrolysate, Elastinhydrolysate, sowie deren Mischungen,

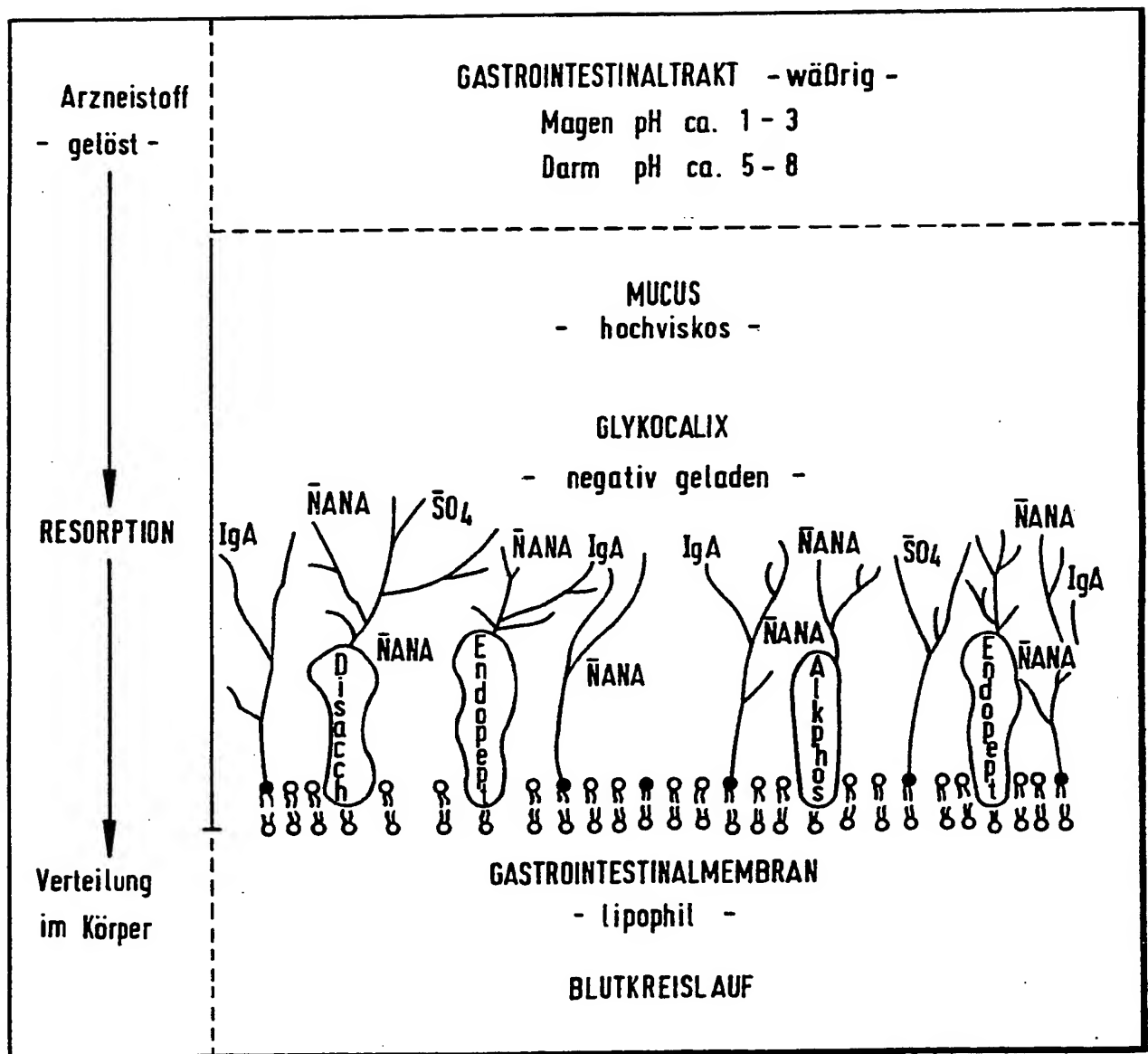
mit einem Weichmacher, der ausgewählt ist aus der Gruppe bestehend aus:

- 15 Glycerol, Propylenglykol, Polyethylenglykole, Triacetin, Sorbitol, Sorbitangemische, Sorbitollösungen, Glucosesirup, Polyole, Zuckeralkohole; sowie deren Mischungen,
20 enthält.



2 / 2

Fig. 3



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/DE 93/00036

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int. Cl. 5 A61K9/16; A61K9/20

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int. Cl. 5 A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No
X	GB,A,2 176 105 (SANDOZ) 17 December 1986 see the whole document	1-4, 6-7, 17, 19, 23, 25
X	EP,A,0 230 647 (SUMIMOTO PHARMACEUTICALS) 5 August 1987 see abstract see column 4, line 5 - line 52 see column 8, line 37 - line 51; claims; examples 5-6, 11	1-2, 6-7, 18, 23, 25
A	EP,A,0 138 216 (SUMIMOTO CHEMICAL COMPANY) 24 April 1985 see abstract see page 6, line 1 - line 27; claims 1-4; examples 9, 16	1-7, 17-26

-/-

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"T" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance: the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance: the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

22 March 1993 (22.03.93)

Date of mailing of the international search report

22 April 1993 (22.04.93)

Name and mailing address of the ISA

EU EUROPEAN PATENT OFFICE

Facsimile No

Authorized officer:

Telephone No

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/DE 93/00036

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO,A,8 903 207 (COSMAS-DAMIAN LIMITED) 20 April 1989 see abstract see page 7, line 13 - line 21 see page 13, line 1 - line 25; claims 1,3,13-15	1-7, 17-26
A	US,A,3 312 594 (G.N. CYR ET AL.) 4 April 1967 see the whole document	1-7, 17-26
A	WO,A,8 505 029 (MEDAPHORE INC.) 21 November 1985 see abstract; examples 10-15	1-7, 17-26
A	WO,A,9 106 282 (DANBIOSYST) 16 May 1991 see abstract; claims	1-4
A	WO,A,9 109 591 (MEDIVENTURES INC.) 11 July 1991 see page 11, line 5 - line 9; example 18	8-16
A	FR,A,1 259 081 (HOFFMANN LA ROCHE) 13 March 1961 see page 2, column 2, line 29 - line 33	2

ANNEX TO THE INTERNATIONAL SEARCH REPORT ON INTERNATIONAL PATENT APPLICATION NO.

DE 9300036
SA 69189

This annex lists the patent family members relating to the patent documents cited in the above-mentioned international search report.
The members are as contained in the European Patent Office EDP file on
The European Patent Office is in no way liable for these particulars which are merely given for the purpose of information.

22/03/93

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
GB-A-2176105	17-12-86	AU-A- 5824786	11-12-86
		BE-A- 904863	03-12-86
		CH-A- 668913	15-02-89
		DE-A- 3617728	04-12-86
		FR-A- 2582511	05-12-86
		GB-A- 2213377	16-08-89
		JP-A- 61282320	12-12-86
		LU-A- 86457	13-01-87
		NL-A- 8601285	02-01-87
		SE-A- 8602530	05-12-86
		US-A- 4988512	29-01-91
EP-A-0230647	05-08-87	JP-A- 62152816	07-07-87
		US-A- 4849141	18-07-89
		JP-A- 62228028	06-10-87
EP-A-0138216	24-04-85	JP-A- 60084213	13-05-85
		JP-A- 60089418	20-05-85
		JP-C- 1713509	27-11-92
		JP-B- 3072046	15-11-91
		JP-A- 60097918	31-05-85
		DE-A- 3484951	26-09-91
		DE-A- 3486029	18-02-93
		EP-A,B 0139286	02-05-85
		EP-A,B 0140255	08-05-85
		US-A- 5021241	04-06-91
		US-A- 5081156	14-01-92
		US-A- 4774091	27-09-88
		US-A- 4855134	08-08-89
WO-A-8903207	20-04-89	AU-A- 2540688	02-05-89
		EP-A- 0396549	14-11-90
		JP-T- 3503160	18-07-91
US-A-3312594		None	
WO-A-8505029	21-11-85	EP-A- 0179904	07-05-86
		US-A- 4963526	16-10-90
		US-A- 4849405	18-07-89

**ANNEX TO THE INTERNATIONAL SEARCH REPORT
ON INTERNATIONAL PATENT APPLICATION NO.**

DE 9300036
SA 69189

This annex lists the patent family members relating to the patent documents cited in the above-mentioned international search report.
The members are as contained in the European Patent Office EDP file on
The European Patent Office is in no way liable for these particulars which are merely given for the purpose of information. 22/03/93

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO-A-9106282	16-05-91	GB-A- 2237510	08-05-91
		EP-A- 0500594	02-09-92
WO-A-9109591	11-07-91	AU-A- 7171191	24-07-91
		EP-A- 0460185	11-12-91
		JP-T- 4503959	16-07-92
		US-A- 5120549	09-06-92
FR-A-1259081		GB-A- 887901	

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/DE 93/00036

I. KLASSEFIKATION DES ANMELDUNGSGEGENSTANDS (bei mehreren Klassifikationssymbolen sind alle anzugeben) ⁶		
Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPC) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPC Int.Kl. 5 A61K9/16; A61K9/20		
II. RECHERCHIERTE SACHGEBIETE		
Recherchierter Mindestprüfstoff ⁷		
Klassifikationssystem	Klassifikationssymbole	
Int.Kl. 5	A61K	
Recherchierte nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Sachgebiete fallen ⁸		
III. EINSCHLAGIGE VERÖFFENTLICHUNGEN ⁹		
Art. ⁹	Kennzeichnung der Veröffentlichung ¹¹ , soweit erforderlich unter Angabe der maßgeblichen Teile ¹²	Betr. Anspruch Nr. ¹³
X	GB,A,2 176 105 (SANDOZ) 17. Dezember 1986 siehe das ganze Dokument ---	1-4,6-7, 17,19, 23,25
X	EP,A,0 230 647 (SUMIMOTO PHARMACEUTICALS) 5. August 1987 siehe Zusammenfassung siehe Spalte 4, Zeile 5 - Zeile 52 siehe Spalte 8, Zeile 37 - Zeile 51; Ansprüche; Beispiele 5-6,11 ---	1-2,6-7, 18,23,25
A	EP,A,0 138 216 (SUMIMOTO CHEMICAL COMPANY) 24. April 1985 siehe Zusammenfassung siehe Seite 6, Zeile 1 - Zeile 27; Ansprüche 1-4; Beispiele 9,16 ---	1-7, 17-26
-/--		
<div style="display: flex; justify-content: space-between;"> <div style="width: 45%;"> <p>¹⁰ Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen:</p> <p>"A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist</p> <p>"E" Älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist</p> <p>"L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)</p> <p>"O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht</p> <p>"P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist</p> </div> <div style="width: 45%;"> <p>"T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist</p> <p>"X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden</p> <p>"Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist</p> <p>"&" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist</p> </div> </div>		
IV. BESCHEINIGUNG		
Datum des Abschlusses der internationalen Recherche <div style="text-align: center; font-weight: bold;">22. MAERZ 1993</div>		Absenddatum des internationalen Recherchenberichts <div style="text-align: center; font-weight: bold;">22. 04. 93,</div>
Internationale Recherchenbehörde <div style="text-align: center; font-weight: bold;">EUROPAISCHES PATENTAMT</div>		Unterschrift des bevollmächtigten Bediensteten <div style="text-align: center; font-weight: bold;">HOFF P.J.</div>

III. EINSCHLAGIGE VERÖFFENTLICHUNGEN (Fortsetzung von Blatt 2)		
Art *	Kennzeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der maßgeblichen Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	WO,A,8 903 207 (COSMAS-DAMIAN LIMITED) 20. April 1989 siehe Zusammenfassung siehe Seite 7, Zeile 13 - Zeile 21 siehe Seite 13, Zeile 1 - Zeile 25; Ansprüche 1,3,13-15 ---	1-7, 17-26
A	US,A,3 312 594 (G.N. CYR ET AL.) 4. April 1967 siehe das ganze Dokument ---	1-7, 17-26
A	WO,A,8 505 029 (MEDAPHORE INC.) 21. November 1985 siehe Zusammenfassung; Beispiele 10-15 ---	1-7, 17-26
A	WO,A,9 106 282 (DANBIOSYST) 16. Mai 1991 siehe Zusammenfassung; Ansprüche ---	1-4
A	WO,A,9 109 591 (MEDIVENTURES INC.) 11. Juli 1991 siehe Seite 11, Zeile 5 - Zeile 9; Beispiel 18 ---	8-16
A	FR,A,1 259 081 (HOFFMANN LA ROCHE) 13. März 1961 siehe Seite 2, Spalte 2, Zeile 29 - Zeile 33 -----	2

**ANHANG ZUM INTERNATIONALEN RECHERCHENBERICHT
ÜBER DIE INTERNATIONALE PATENTANMELDUNG NR.**

DE 9300036
SA 69189

In diesem Anhang sind die Mitglieder der Patentfamilien der im obengenannten internationalen Recherchenbericht angeführten Patentedokumente angegeben.
Die Angaben über die Familienmitglieder entsprechen dem Stand der Datei des Europäischen Patentamts am 22/03/93.
Diese Angaben dienen nur zur Unterrichtung und erfolgen ohne Gewähr.

22/03/93

Im Recherchenbericht angeführtes Patentedokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
GB-A-2176105	17-12-86	AU-A- 5824786	11-12-86
		BE-A- 904863	03-12-86
		CH-A- 668913	15-02-89
		DE-A- 3617728	04-12-86
		FR-A- 2582511	05-12-86
		GB-A- 2213377	16-08-89
		JP-A- 61282320	12-12-86
		LU-A- 86457	13-01-87
		NL-A- 8601285	02-01-87
		SE-A- 8602530	05-12-86
		US-A- 4988512	29-01-91
EP-A-0230647	05-08-87	JP-A- 62152816	07-07-87
		US-A- 4849141	18-07-89
		JP-A- 62228028	06-10-87
EP-A-0138216	24-04-85	JP-A- 60084213	13-05-85
		JP-A- 60089418	20-05-85
		JP-C- 1713509	27-11-92
		JP-B- 3072046	15-11-91
		JP-A- 60097918	31-05-85
		DE-A- 3484951	26-09-91
		DE-A- 3486029	18-02-93
		EP-A,B 0139286	02-05-85
		EP-A,B 0140255	08-05-85
		US-A- 5021241	04-06-91
		US-A- 5081156	14-01-92
		US-A- 4774091	27-09-88
		US-A- 4855134	08-08-89
WO-A-8903207	20-04-89	AU-A- 2540688	02-05-89
		EP-A- 0396549	14-11-90
		JP-T- 3503160	18-07-91
US-A-3312594		Keine	
WO-A-8505029	21-11-85	EP-A- 0179904	07-05-86
		US-A- 4963526	16-10-90
		US-A- 4849405	18-07-89

EPO FORM P003

Für nähere Einzelheiten zu diesem Anhang : siehe Amtsblatt des Europäischen Patentamts, Nr.12/82

ANHANG ZUM INTERNATIONALEN RECHERCHENBERICHT ÜBER DIE INTERNATIONALE PATENTANMELDUNG NR.

DE 9300036
SA 69189

In diesem Anhang sind die Mitglieder der Patentfamilien der im obengenannten internationalen Recherchenbericht angeführten Patentedokumente angegeben.
Die Angaben über die Familienmitglieder entsprechen dem Stand der Datei des Europäischen Patentamts am 22/03/93.
Diese Angaben dienen nur zur Unterrichtung und erfolgen ohne Gewähr.

22/03/93

Im Recherchenbericht angeführtes Patentedokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
WO-A-9106282	16-05-91	GB-A- 2237510	08-05-91
		EP-A- 0500594	02-09-92
WO-A-9109591	11-07-91	AU-A- 7171191	24-07-91
		EP-A- 0460185	11-12-91
		JP-T- 4503959	16-07-92
		US-A- 5120549	09-06-92
FR-A-1259081		GB-A- 887901	

EPO FORM P0473

Für nähere Einzelheiten zu diesem Anhang : siehe Amtsblatt des Europäischen Patentamts, Nr.12/82

THIS PAGE BLANK (USPTO)

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ BLACK BORDERS
- ☐ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- ☒ FADED TEXT OR DRAWING
- ☐ BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING
- ☐ SKEWED/SLANTED IMAGES
- ☐ COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS
- ☐ GRAY SCALE DOCUMENTS
- ☒ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT
- ☐ REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY
- ☐ OTHER: _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.

THIS PAGE BLANK (USPTO)